7. تحليل النبات

يُقاس تركيز العناصر الغذائية في النباتات في مستخلص من مواد نباتية طازجة (مثلاً في *تحليل النسج*)، أو من مواد نباتية جافة تماماً. ويعتبر الاختبار الأول اختباراً كمياً وملائماً للقياسات السريعة لمحصول مزروع.

ويعتبر تحليل النبات الكلي total plant analysis تحليلاً كمياً بالجوهر ويمكن الاعتماد عليه بشكل أكبر بالإضافة لفائدته. ويعطي **الملحق 11 أمثلة** عن المدى العام *للنقص* deficiency، و*الكفاية* adequacy، والزيادة excess في تركيز العناصر الغذائية في حالة محاصيل الحبوب. مما يكسب أهمية بالغة للعنصر N بالإضافة إلى P، B وكاتيونات العناصر الغذائية الصغرى.

ولمزيد من التفصيلات حول الدلائل التفسيرية لبيانات تحليل النبات راجع Jones *et al.* (1991) و Reuter and Robinson (1986، 1997).

1.7 الآزوت

يعتبر تحليل النبات بطريقة الكلداهل عند تقدير الآزوت (N) من أكثر الطرق شيوعاً. و من ناحية ثانية، يُستخدم أيضاً الهضم الرطب بوساطة حمض الكبريت المركز و الماء الأكسجيني (H_2O_2) لكي يلغى استخدام السيلينيوم في الطرق السابقة (Van Schouwenberg and Walinge, 1973).

1.1.7 آزوت الكلداهل

الأجهزة

جهاز هضم.
جهاز وحدة تقطير.
جهاز معايرة أتوماتيكي موصول إلى جهاز pH.
جهاز رج أنابيب.

المحاليل

إن المواد الكيميائية المستخدمة هنا هي ذاتها المستخدمة في طريقة آزوت كلداهل في التربة.

أ. خليط مُحفز (K_2SO_4-Se) النسبة 1 : 100 w/w.

ب. حمض الكبريت (H_2SO_4)، المركز

ج. ملح EDTA ثنائي الصوديوم، الوزن الجزيئي = 372.2

د. محلول ماءات الصوديوم (NaOH)، 10 *N*

هـ. محلول حمض البوريك (H_3BO_3)، المشبع

و. محلول حمض الكبريت (H_2SO_4)، 0.01 *N*

ز. محلول الأم القياسي : 1.2 غ NH_4-N في الليتر.

طريقة العمل

أ. الهضم

1. أمزج عينة النبات المطحونة جيداً (بمطحنة لولبية) وانشرها على شكل طبقة ناعمة على صفحة من الورق حتى تبدو متجانسة.
2. لتحديد الرطوبة، خذ عينات ثانوية ممثلة لعدة عينات نباتية، وزن الواحدة منها 1 غ، و ذلك بأخذ 10 أجزاء صغيرة على الأقل من جميع العينات بوساطة المُبسط spatula ثم ضعها في قارورة بلاستيكية صغيرة.
3. جفف العينات الثانوية عند درجة حرارة 60°م بالفرن، ومن ثم برد في المجفف.
4. زن 0.25 غ (حب) أو 0.50 (قش) من المادة النباتية الجافة، ثم انقل كمياً إلى أنبوب هضم سعة 100 مل.
5. أضف عدة **قطع من حجر الخفان لتنظيم الغليان**. ثم أضف حوالي 3 غ من **الخليط المُحفز** بوساطة ملعقة معيارية.
6. أضف 10 مل من **حمض الكبريت المركز** باستخدام ماصة آلية، امزج العينات جيداً بوساطة جهاز رج الأنابيب.
7. ضع الأنابيب في جهاز الهضم لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 100°م. ثم ضع الأنابيب جانباً، اغسل الحواف الداخلية للأنابيب من أي مواد نباتية ملتصقة بالعنق بنفس حمض الكبريت المركز الموجود بالأنابيب. وذلك بتدوير محتويات الأنبوب بشكل كافي، ومن ثم اعد الأنابيب إلى جهاز الهضم و عند درجة حرارة 380°م أكمل الهضم لمدة ساعتين.
8. بعد إتمام عملية الهضم، ضع الأنابيب جانبا، بردها، واكمل إلى الحجم 100 مل بالماء المقطر.
9. يجب أن تحوي كل مجموعة batch من العينات المهضومة على أنبوب شاهد واحد للمحاليل (بدون نبات)، أنبوب قياسي للمواد الكيميائية (زن 0.1 غ من EDTA كعينة كيميائية قياسية)، وأنبوب واحد كعينة نباتية قياسية (عينة نباتية قياسية محلية internal reference).

ب. التقطير

1. أضبط أجهزة التقطير و المعايرة كما في طريقة آزوت كلداهل في التربة، بخر وحدة التقطير لمدة 10 دقائق.
2. رج أنبوب الهضم قبل البدء بعملية التقطير، حتى يتم مزج محتوياته بشكل كامل. اسحب مباشرة بوساطة الماصة 10 مل من المزيج وضعها في دورق التقطير سعة 100 مل.
3. أضف بعناية 10 مل من محلول **ماءات الصوديوم** 10 N. صل مباشرة دورق التقطير إلى وحدة التقطير بوساطة ملقط خاص، ثم ابدأ عملية التقطير.
4. اجمع حوالي 35 مل من المادة المقطرة في طبق التجميع. أوقف عملية التقطير.

5. ارفع دورق التقطير، صل دورق تقطير فارغ سعة 100 مل إلى وحدة التقطير. أوقف المياه المتدفقة إلى المكثف ومن ثم بخر لمدة 90 ثانية قبل البدء بالعينة التالية.
6. عاير المادة المقطرة إلى درجة pH 5.0 بمحلول **H_2SO_4 0.01** *N* مستخدماً **جهاز المعايرة الأتوماتيكي**. سجل حجم الحمض المستهلك في المعايرة.
7. يجب أن تحتوي كل عملية تقطير على 10 مل من آزوت - أمونيوم القياسي مع 0.2 غ من MgO و 10 مل من الماء المقطر مع 0.2 غ من MgO. كما يجب أن تكون نسبة الاسترداد لمحلول آزوت–أمونيوم القياسي 98٪ على الأقل. وتقدر نسبة الاسترداد لمادة EDTA القياسية المصححة على أساس شاهد للمحاليل blank reagent بـ 97% على الأقل.

الحساب

النسبة المئوية من **استرداد الآزوت النشادري** القياسي:

$$\% \ Recovery = \frac{(V - B) \times N \times 14.01 \times 100}{C \times D} \qquad (59)$$

حيث أن:

V = حجم محلول H_2SO_4 0.01 *N* المستهلك في معايرة العينة (مل)

B = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)

N = نظامية محلول H_2SO_4.

14.01 = الوزن الذري للآزوت.

C = حجم محلول NH_4-N القياسي (مل)

D = تركيز محلول NH_4-N القياسي (ميكروغرام/مل)

النسبة المئوية من استرداد **EDTA** القياسي :

$$\% \ Recovery = \frac{(V - B_1) \times N \times R \times 186.1 \times 100}{Wt_1 \times 1000} \qquad (60)$$

النسبة **المئوية للآزوت** في النبات :

$$\% N = \frac{(V - B_1) \times N \times R \times 14.01 \times 100}{Wt_2 \times 1000} \qquad (61)$$

حيث أن: R = النسبة بين الحجم الكلي للعينة المهضومة و بين الحجم المأخوذ للتقطير.

B_1 = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)

Wt_1 = وزن EDTA (غ)

Wt_2 = وزن النبات الجاف (غ)

186.1 = الوزن المكافئ لمادة EDTA.

2.1.7 الآزوت النتراتي

لايعد الاستخدام الروتيني للمعادن الثقيلة كخليط مُحفز أمراً سليماً من الناحية البيئية. وانطلاقاً من هذا الرأي، أقتُرح حديثاً إجراء معاملة المواد النباتية بمزيج من H_2SO_4 -H_2O_2 في غياب الخليط المعدني كطريقة هضم بديلة لطريقة آزوت الكلداهل في الترب و النباتات (McGill and Figueiredo, 1993).

المحاليل

أ. **حمض الكبريت (H_2SO_4)، المركز**

ب. **فوق أكسيد الهيدروجين (الماء الأكسجيني) (H_2O_2)، 30%**

طريقة العمل

1. زن 0.5 غ من المادة النباتية الجافة إلى أنبوب هضم سعة 100 مل.
2. أضف 3–4 قطع من **حجر الخفان لتنظيم الغليان**، 5 مل من **حمض الكبريت المركز**، امزجه جيداً.
3. اتركه طوال الليل.
4. سخن على جهاز الهضم عند درجات حرارة معتدلة 100-150°م.
5. حرك جيداً لإيقاف الرغوة. وفي حال وصولها إلى عنق أنبوب الهضم، أضف 2 مل من **فوق أكسيد الهيدروجين 30%**.
6. سخن الأنابيب لمدة تتراوح بين 30–60 دقيقة في جهاز الهضم.
7. برد الأنابيب، ثم أضف 2 مل من **فوق أكسيد الهيدروجين** 30%.
8. ارفع درجة حرارة جهاز الهضم حتى 280°م.
9. سخن الأنابيب لمدة 10دقائق عند الحرارة 280°م.
10. برد الأنابيب، ثم أضف 2 مل **فوق أكسيد الهيدروجين** 30%، وسخنها لمدة 10 دقائق.
11. أعد الخطوتين 9 و 10 حتى يبدو المحلول صافياً بعد 10 دقائق من التسخين.
12. برد المحلول، وأكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

القياس

يمكن قياس محتوى الآزوت في هذا المحلول المهضوم **بطريقة التقطير**. كما يمكن قياس الفوسفور **بالطريقة اللونية**، بعد ترشيح المحلول المهضوم بورقة ترشيح 5 أو Whatman No. 1، كما وصفها من قبل Murphy and Riley (1962) . وترتبط نتائج العنصرين N وP بشكل وثيق مع طريقة هضم كلداهل القياسية.

3.1.7 الآزوت الكلي

تعتمد هذه الطريقة على هضم المادة النباتية في مزيج من حمض الساليسيليك والكبريت (Buresh *et al.*, 1982).

المحاليل

أ. مزيج حمض الساليسيليك-الكبريت (يحتوي H_2SO_4 المركز على 2.5% w/v من حمض الساليسيليك).

أذب 62.5 غ من حمض *الساليسيليك النقي* ($C_7H_6O_3$) في 2.5 ليتر من حمض *الكبريت المركز*.

ب. خليط مُحفز (K_2SO_4-Se) النسبة 1 : 100 w/w.

ج. ثيو كبريتات الصوديوم ($Na_2S_2O_3.5H_2O$)، بلورات

د. ملح EDTA ثنائي الصوديوم، الوزن الجزيئي = 372.2

طريقة العمل

أ. الهضم

1. أمزج عينة النبات المطحونة جيداً وانشرها على شكل طبقة ناعمة على صفحة من الورق حتى تبدو متجانسة.
2. لتحديد الرطوبة، خذ عينات ثانوية ممثلة لعدة عينات نباتية، وزن الواحدة 1 غ، وذلك بأخذ 10 أجزاء صغيرة على الأقل من جميع العينات بواسطة المُبسط spatula ثم وضعها في قارورة بلاستيكية صغيرة.
3. جفف العينات الثانوية عند درجة حرارة 60°م بالفرن، ومن ثم بردها في المجفف.
4. زن 0.25 غ (حب) أو 0.50 (قش) من المادة النباتية الجافة، ثم انقل كمياً إلى أنبوب هضم سعة 250 مل.
5. أضف 20 مل من مزيج **حمض الساليسيليك-الكبريت** بينما يُدوَّر الأنبوب لغسل أية بقايا ملتصقة على حواف أنبوب العينة النباتية، ثم اترك المزيج لمدة ساعتين أو أكثر مع إجراء التدوير بين فترة وأخرى.
6. أضف 2.5 غ من **ثيو كبريتات الصوديوم** عبر قُمع طويل الساق إلى محتوى الأنبوب، ثم دوِّر بلطف مرات قليلة، ومن ثم اتركه طوال الليل.

7. أضف 4 غ من **خليط مُحفز**، 3–4 قطع من **حجر الخفان لتنظيم الغليان**، ثم ضع الأنابيب على جهاز هضم تصل درجة حرارته إلى 400°م.
8. ضع أقماع زجاجية في فتحات الأنابيب للتأكد من وجود ارتداد فعال للمزيج المهضوم و لمنع فقد H_2SO_4، ثم أكمل عملية الهضم حتى يصبح المزيج صافياً.
9. ارفع الأنابيب عن جهاز الهضم جانباً واتركها تبرد لمدة 20 دقيقة. ثم اغسل الحواف الداخلية للأنابيب من أي مواد نباتية ملتصقة بالعنق بأقل كمية ممكنة من الماء المقطر.
10. حرك محتويات الأنبوب بشكل كافي، و من ثم أعد الأنابيب إلى جهاز الهضم و أكمل الهضم لمدة ساعتين بعد *صفاء المحلول*. علماً أنه يجب ألا تبقى أية مادة صلبة في الأنبوب بعد الهضم.
11. بعد انتهاء عملية الهضم، اترك المحلول المهضوم ليبرد، ثم أضف الماء المقطر بلطف مع الرج حتى يصبح مستوى السائل حوالي 2 مل تحت علامة التدريج.
12. اترك الأنابيب حتى تصبح درجة حرارتها مماثلة لدرجة حرارة الغرفة، ثم أكمل الحجم إلى العلامة (250 مل) بالماء المقطر.
13. يجب أن تحتوي كل مجموعة batch من العينات المهضومة على أنبوب شاهد واحد للمحاليل (بدون نبات)، وأنبوب قياسي للمواد الكيميائية (زن 0.1 غ من EDTA كعينة كيميائية قياسية)، وأنبوب واحد كعينة نباتية قياسية (عينة نباتية قياسية محلية internal reference).

ب. التقطير

إن المحاليل المطلوبة لعملية التقطير هي ذاتها المستخدمة في طريقة آزوت كلداهل في التربة.

1. أضبط أجهزة التقطير والمعايرة كما في طريقة آزوت كلداهل في التربة، بخر وحدة التقطير لمدة 10 دقائق.
2. قبل البدء بعملية التقطير، رج أنبوب الهضم حتى يتم مزج محتوياته بشكل كامل. اسحب بوساطة الماصة مباشرة حجماً مناسباً من المحلول المهضوم ثم ضعه في دورق التقطير سعة 300 مل.
3. أضف بعناية 7 مل أو 15 من محلول **ماءات الصوديوم** 10 N إلى الحجم 25 مل أو 50 مل من المحلول المهضوم، على التوالي، صل مباشرة دورق التقطير إلى وحدة التقطير بوساطة ملقط خاص، ثم ابدأ عملية التقطير.
4. اجمع حوالي 35 مل من المادة المقطرة في طبق التجميع. أوقف عملية التقطير.
5. ارفع دورق التقطير، صل دورق تقطير فارغ سعة 100 مل إلى وحدة التقطير. أوقف المياه المتدفقة إلى المكثف ومن ثم بخر لمدة 90 ثانية قبل البدء بالعينة التالية.
6. عاير المادة المقطرة إلى درجة pH 5.0 بمحلول H_2SO_4 0.01 N مستخدماً **جهاز المعايرة الأتوماتيكي**. سجل حجم الحمض المستهلك في المعايرة.

7. يجب أن تحتوي كل عملية تقطير على محلولين قياسيين standards وشاهدين blanks (شواهد المحاليل). وتقدر نسبة الاسترداد لمادة EDTA القياسية المصححة على أساس شاهد للمحاليل blank reagent بـ 97% على الأقل.

الحساب

النسبة المئوية من استرداد **EDTA** القياسي:

$$\% \, Recovery = \frac{(V - B) \times N \times R \times 186.1 \times 100}{Wt_1 \times 1000} \qquad (62)$$

النسبة **المئوية للآزوت** في النبات:

$$\% \, N = \frac{(V - B) \times N \times R \times 14.01 \times 100}{Wt_2 \times 1000} \qquad (63)$$

حيث أن:

V = حجم محلول H_2SO_4 0.01 N المستهلك في معايرة العينة (مل)

B = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)

N = نظامية محلول H_2SO_4.

14.01 = الوزن الذري للآزوت.

R = النسبة بين الحجم الكلي للعينة المهضومة و بين الحجم المأخوذ للتقطير.

Wt_1 = وزن EDTA (غ)

Wt_2 = وزن النبات الجاف (غ)

186.1 = الوزن المكافئ لمادة EDTA.

2.7 الفوسفور

يمكن تقدير الفوسفور الكلي في المادة النباتية أما بطريقة الهضم الرطب (موصوفة بالقسم **1.1.7**) أو بطريقة الترميد الجاف (موصوفة بالقسم **3.7**). تُعطي كلتا الطريقتين نتائج مُرضية satisfactory. ومع ذلك، طريقة الترميد الجاف بسيطة، وسهلة، وغير خطرة واقتصادية. ومن ثم يمكن قياس محتوى الفوسفور في المحلول المهضوم أو الذائب بالطريقة اللونية.

الأجهزة

جهاز التحليل الطيفي الضوئي أو اللوني، طول الموجة 410 nm.
جهاز هضم.
جهاز رج الأنابيب.

المحاليل

أ. موليبدات الأمونيوم–فاندات الأمونيوم في حمض الآزوت

- أذب 22.5 غ من *موليبدات الأمونيوم* $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} . 4H_2O]$ في 400 مل من الماء المقطر (**a**).
- أذب 1.25 غ من *فاندات الأمونيوم* (NH_4VO_3) في 300 مل من الماء المقطر الحار (**b**).
- أضف (b) إلى (a) في دورق حجمي سعة ليتر، د ع المزيج يبرد حتى تصبح درجة حرارته مماثلة لدرجة حرارة الغرفة.
- أضف بحذر 250 مل من *حمض الآزوت المركز* (HNO_3) إلى المزيج السابق، برد حتى تصبح درجة حرارته مماثلة لدرجة حرارة الغرفة، وأكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

ب. محلول الأم القياسي

- جفف حوالي 2.5 غ من *فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين* (KH_2PO_4) بالفرن على درجة حرارة 105°م لمدة ساعة واحدة، برد بالمجفف، واحفظه في زجاجة محكمة الإغلاق.
- أذب 0.2197 غ من *فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين* في الماء المقطر، ثم أكمل إلى حجم ليتر بالماء المقطر. هذا المحلول يحتوي على 50 ppm من الفوسفور (*محلول الأم*).
- حضر سلسلة من المحاليل القياسية من *محلول الأم* كالتالي : خفف 1، 2، 3، 4، 5 مل من *محلول الأم* إلى 100 مل حجم نهائي حيث يضاف لكل منهما الماء المقطر. تحتوي هذه المحاليل على 0.5، 1.0، 1.5، 2.0، 2.5 ppm من الفوسفور، على التوالي.

طريقة العمل

أ. طريقة الهضم الرطب

- يتم الهضم الرطب للمواد النباتية (كما هو موضّح في آزوت كلداهل في النبات القسم **1.1.7**).
- يتم ترشيح العينات المهضومة بورقة ترشيح Whatman No.1، ويجمع الراشح في زجاجة صغيره.

أو ***كطريقة بديلة***

طريقة الترميد الجاف

- يتم الترميد الجاف للمواد النباتية (كما هو مبيّن في تحليل كاتيونات العناصر الغذائية الكبرى والصغرى في الفصل **3.7**).
- أذب المادة المر مدة في N 2 HCl (كما هو مبيَّن في القسم **3.7**).

ب. القياس

1. اسحب بوساطة الماصة 10 مل من الراشح المهضوم أو حجم مناسب من الرماد الذائب (تعتمد على الطريقة المستخدمة) إلى دورق حجمي سعة 100 مل، ثم أضف 10 مل من محلول **موليبدات–فاندات الأمونيوم**، خفف المحلول إلى الحجم بالماء المقطر.
2. حضر المنحنى القياسي كما يلي:

- اسحب بوساطة الماصة 1، 2، 3، 4، 5 مل من محلول الأم القياسي، وتابع الإجراءات كما هو الحال في العينات.
- كذلك حضر شاهداً بسحب 10 مل من محلول *موليبدات–فاندات الأمونيوم*، وتابع الإجراءات كما هو الحال في العينات.
- اقرأ الامتصاص الضوئي absorbance للشاهد، المحاليل القياسية، والعينات بعد 30 دقيقة عند طول موجة 410 nm.

3. حضر الخط البياني للمحاليل القياسية، وذلك برسم خط بياني بين قراءات الامتصاص الضوئي وتراكيز الفوسفور في المحاليل القياسية، على التوالي.
4. اقرأ تركيز الفوسفور (P) في العينات المجهولة من الخط البياني.

الحساب

النسبة المئوية **للفوسفور الكلي** في النبات:

$$\% P = ppm\ P \ (\text{من المنحنى القياسي}) \times \frac{R}{Wt} \times \frac{100}{10000} \quad \textbf{(64)}$$

حيث أن: R = النسبة بين الحجم الكلي للعينة المهضومة أو الحجم المناسب من الرماد الذائب إلى الحجم المأخوذ للقياس.

Wt = وزن النبات الجاف (غ)

ملاحظة

يمكن أيضاً استخدام مستخلص النبات المهضوم بوساطة فوق أكسيد الهيدروجين وحمض الكبريت المركز في قياس تركيز الفوسفور الموجود في النباتات (الموصوفة بالقسم **2.1.7**).

3.7 تقدير العناصر الغذائية الكبرى و الصغرى بطريقة الترميد الجاف

يعد تحليل النبات بطريقة الترميد الجاف طريقةً سهلة، غير خطرة وأقل كلفة إذا ما قورنت مع طريقة الهضم الرطب بوساطة HNO_3-$HClO_4$. وتعتبر طريقة الترميد الجاف مناسبة لتحليل P، K، Ca، Mg، وNa. أما كاتيونات العناصر الصغرى (Fe، Zn، Cu، وMn) لا يمكن تحليلها بطريقة الترميد إلا في أنسجة النباتات المتدنية المحتوى من السيليكا silica (مثل البقوليات).

لذلك يتعين استخدام طريقة الهضم الرطب بوساطة HNO_3-$HClO_4$ عند الرغبة في تقدير كاتيونات العناصر الصغرى في أنسجة النباتات العالية المحتوى من السيليكا (مثل القمح، الشعير، الرز، وقصب السكر ... الخ) (الطريقة موضحة في **القسم 5.7**) . ويُحذر عند تقدير B بطريقة الترميد الجاف استخدام الأواني الزجاجية (تستخدم إجراءات خاصة عند تحليل B في أنسجة النباتات، موضحة في **القسم 4.7**).

الأجهزة

جهاز التحليل الطيفي الضوئي أو اللوني، طول الموجة 410 nm.
جهاز التحليل الطيفي باللهب.
جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري.
جفنات من البورسلين أو بياكر زجاجية pyrex (سعة 30–50 مل).

المحاليل

حمض كلور الماء (HCl)، *N* 2

خفف 165.6 مل من حمض *كلور الماء المركز* (sp.gr.1.19، 37%) في الماء المقطر، أمزج جيداً، دعه يبرد، وأكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

طريقة العمل

هي نفس الطريقة التي اتبعها Chapman and Pratt (1961) مع بعض التعديلات الطفيفة.

1. زن 0.5-1.0 غ من المادة النباتية المطحونة في جفنات من البورسلين سعة 30–50 مل أو بياكر زجاجية pyrex.
2. ضع جفنات البورسلين في المرمدة muffle furnace الباردة، ثم ارفع درجة الحرارة تدريجياً حتى تصل إلى 550°م.

3. استمر بعملية الترميد لمدة 5 ساعات بعد الوصول إلى درجة حرارة 550°م.
4. أطفئ المرمدة وافتح الباب بحذر كي تبرد العينات بسرعة.
5. أخرج الجفنات من المرمدة بحذر.
6. أذب الرماد البارد في 5 مل من **حمض كلور الماء** مع المزج بقضيب بلاستيكي.
7. بعد مرور 15–20 دقيقة، أكمل إلى الحجم (عادة 50 مل) مستخدماً الماء المقطر.
8. أمزجه جيداً، ثم اتركه لمدة 30 دقيقة تقريباً، استخدم المحلول الطافي أو رشحه بوساطة ورق ترشيح Whatman No. 42، مع الاستغناء عن القطرات الأولى من الراشح.
9. قدر الفوسفور في الراشح **بالطريقة اللونية** (بوساطة طريقة **موليبدات الأمونيوم–فاندات الأمونيوم** ذات اللون الأصفر)، قدر البوتاسيوم و الصوديوم **بجهاز التحليل الطيفي باللهب**، قدر Ca، Mg، Zn، Cu، Fe، Mn **بجهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري**.

ملاحظة

عند قياس Ca و Mg، يجب أن تحتوي التخفيفات النهائية للمستخلصات على 1% w/v من الليثيوم (La)، كما يجب أن تتم مقارنة التقديرات مع المحاليل القياسية والشاهد المحتويان على نفس النسبة من تركيز الليثيوم وذلك للتغلب على التداخلات الأيونية.

4.7 البورون

يقاس البورون في عينة النبات بوساطة الترميد الجاف (Chapman and Pratt, 1961) وتستخدم كخطوة ثانية الطريقة اللونية لتقدير البورون بوساطة **آزوميثان H-** (Bingham, 1982).

الأجهزة

جهاز التحليل الطيفي الضوئي أو اللوني، طول الموجة 420 nm.
أنابيب اختبار من البولي بروبيلين سعة 10 مل.
جفنات من البورسلين .

المحاليل

أ. حمض الكبريت (H_2SO_4)، 0.36 *N*

ب. محلول مُنظم Buffer Solution

يحضر كما في طريقة الماء الساخن في التربة.

ج. آزوميثان H-

يحضر كما في طريقة الماء الساخن في التربة.

د. محلول الأم القياسي

يحضر كما في طريقة الماء الساخن في التربة.

طريقة العمل

1. زن 1 غ من المادة الجافة و المطحونة في جفنة من البورسلين.
2. رمد العينة في المرمدة muffle furnace الباردة، وارفع درجة الحرارة تدريجياً حتى تصل إلى 550°م.
3. استمر بعملية الترميد لمدة 6 ساعات بعد الوصول إلى درجة حرارة 550°م.
4. بعد الانتهاء من الترميد و التبريد، رطب الرماد بخمس قطرات من الماء المقطر، ثم أضف 10 مل من محلول **حمض الكبريت** 0.36 *N* إلى العينات المرمدة في جفنات البورسلين. ضع الجفنات على حمام مائي لمدة 20 دقيقة.

5. اترك الرماد لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة، مع التحريك بين الفترة و الأخرى بقضيب بلاستيكي لتفتيت الرماد.
6. رشح المحلول بورقة ترشيح Whatman No.1 إلى دورق حجمي من بولي بروبيلين سعة 50 مل. ثم أكمل إلى الحجم المطلوب بالماء المقطر. ويكون الراشح جاهزاً لتقدير البورون.

ب. القياس

يقاس البورون كما في طريقة الماء الساخن في التربة.

الحساب

من أجل **البورون** في النبات:

$$B\ (ppm) = ppm\ B\ (\text{من المنحنى القياسي}) \times \frac{A}{Wt} \qquad \textbf{(65)}$$

حيث أن: A = الحجم الكلي للمستخلص (مل)

Wt = وزن النبات الجاف (غ)

5.7 تقدير العناصر الغذائية الصغرى بطريقة الهضم الرطب

لايمكن استرداد للعناصر الغذائية الصغرى (Zn، Fe، Mn، Cu) استرداداً كاملاً full recovery بطريقة الترميد الجاف في أنسجة النباتات العالية المحتوى من السيليكا (مثل القمح، الشعير، الرز، و قصب السكر ... إلخ)، لذلك، يمكن اتباع طريقة الهضم الرطب لمثل هذه الأنواع من المواد النباتية مستخدمين HNO_3-$HClO_4$. وقد اقتبست طريقة الهضم هذه من Rashid (1986). ويمكن أيضاً تقدير عناصر كثيرة (مثل P، K، Ca، Mg، Na) في نفس المحلول المهضوم.

الأجهزة

جهاز هضم.
جهاز رج الأنابيب.
جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري.
جهاز التحليل الطيفي باللهب.

المحاليل

حمض فوق الكلوريك – حمض الآزوت (HNO_3-$HClO_4$)، النسبة 2 :1
أضف 500 مل من حمض *فوق الكلوريك المركز* إلى ليتر من حمض *الآزوت المركز*.

طريقة العمل

أ. الهضم

1. زن 1 غ من المادة النباتية الجافة، ثم انقلها كمياً إلى أنبوب هضم pyrex سعة 100 مل.
2. أضف 10 مل من المزيج **حمض فوق الكلوريك – حمض الآزوت** (2 : 1)، دع العينات جانباً طوال الليل حتى ينتهي طور التفاعل القوي في العينة.
3. ضع أقماع صغيرة ذات ساق قصيرة في فتحات الأنابيب لمنع فقد الحمض.
4. بعد إجراء ترتيبات الهضم الأولية، ضع الأنابيب على جهاز الهضم البارد، ومن ثم ارفع درجة الحرارة حتى 150°م لمدة ساعة واحدة.
5. ضع قضبان زجاجية ذات شكل U تحت كل قمع لضبط خروج الأبخرة المتطايرة.

6. ارفع درجة الحرارة تدريجياً حتى تختفي كل أثار حمض الآزوت، ومن ثم ارفع القضبان الزجاجية ذات الشكل U.
7. ارفع درجة الحرارة حتى 235°م.
8. راقب الوقت، فعند ظهور الأبخرة البيضاء لحمض فوق الكلوريك في الأنابيب، استمر بالهضم لمدة 30 دقيقة زيادة.
9. ارفع حامل الأنابيب من جهاز الهضم، دعه يبرد لعدة دقائق، ثم أضف بعناية نقاط قليلة من الماء المقطر من خلال فتحة القمع.
10. بعد تكثيف الأبخرة، أضف الماء المقطر بكميات قليلة لغسل الحواف الداخلية للأنابيب والأقماع.
11. أكمل إلى الحجم بالماء المقطر. أمزج المحلول في كل أنبوب واتركهم بدون تحريك مدة من الوقت.
12. يجب أن تحتوي كل مجموعة batch من العينات المهضومة على أنبوب شاهد واحد على الأقل (بدون مادة نباتية).

ب. القياس

قدر العناصر التالية Zn، Fe، Mn، Cu، Ca، Mg بوساطة **جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري**. وقدر K، Na بوساطة **جهاز التحليل الطيفي باللهب**.

الحساب

من أجل **كاتيونات العناصر الغذائية الصغرى** في النبات:

$$Zn, Fe, Cu \text{ or } Mn \text{ (ppm)} = (\text{ppm in extract} - \text{blank}) \times \frac{A}{Wt} \qquad (66)$$

من أجل **كاتيونات العناصر الأرضية القلوية** Alkaline Earth Cations في النبات :

$$Ca, Mg, Na \text{ or } K \text{ (ppm)} = (\text{ppm in extract} - \text{blank}) \times \frac{A}{Wt} \qquad (67)$$

حيث أن: A = الحجم الكلي للمستخلص (مل)

Wt = وزن النبات الجاف (غ)

6.7 تقدير الحديدوز في نسج نباتية طازجة

بما أن محتوى الحديد الكلي (Fe) في نسج النبات لا يشير إلى الحالة الغذائية للحديد في النباتات، فقد تم اقتراح تقدير أيون الحديدوز (Fe^{2+}) في النسج الطازجة بوساطة محلول (1–10)o–فيناثرولين (o-phenathroline) وهي طريقةٌ قدمها العالمان (Katyal and Sharma, 1980). من ثم يقاس محتوى الحديدوز في المستخلصات بالطريقة اللونية أو بجهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري.

استخلاص أيون الحديدوز بوساطة محلول (1–10)o–فيناثرولين

الأجهزة

جهاز التحليل الطيفي الضوئي أو اللوني، طول الموجة 510 nm.
جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري.

المحاليل

أ. محلول الاستخلاص ($C_{12}H_8N_2$)، 1.5% في HCl محلول مُنظم عند pH 3.0

أضف 15 غ من (1–10) *o– فيناثرولين* إلى حوالي 850 مل الماء المقطر. ثم أضف حمض *كلور الماء* 1 *N* تدريجياً مع التحريك المستمر للمحلول حتى تتلاشى آثار (1–10) *o– فيناثرولين*. وحينها ستكون درجة pH النهائية للمحلول حوالي 3.0. أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

ب. محلول الأم القياسي

حضر محاليل قياسية للحديد تحتوي على 0، 1.0، 1.5، 2.0، 2.5، 3.0 ppm Fe^{2+} باستخدام محلول الاستخلاص.

طريقة العمل

أ. الاستخلاص

1. استخدم بعناية نسج نباتية طازجة مغسولة عند تحليل الحديدوز.
2. زن 2 غ من عينة نباتية طازجة (مفرومة بوساطة مقص فولاذي غير قابل للصدأ scissors stainless) في دورق معياري أرلينماير سعة 50 مل.

3. أضف 20 مل من **محلول الاستخلاص**، حرك بلطف للتأكد من أن نسج النبات قد غمرت بشكل كلي بالمحلول.
4. أغلق الدورق باستخدام البارافيلم parafilm، واتركه لمدة 16 ساعة بدرجة حرارة الغرفة.
5. رشح المحتوى بورقة ترشيح Whatman No. 1.

ب. القياس

1. قدر محتوى الحديدوز في الراشح بوساطة **الطريقة اللونية** عند طول موجة 510 nm أو **بجهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري**. ويحسب تركيز الحديدوز في مستخلصات النبات مقارنة مع المحاليل القياسية.
2. عبر عن محتوى الحديدوز في نسج النبات على أساس الوزن الجاف وذلك بعد تحديد محتوى الرطوبة في عينة ثانوية من نسج النبات الطازج.

الحساب

من أجل **الحديدوز** في النسج النباتية الطازجة :

$$Fe^{++}\,(ppm) = ppm\ Fe^{++}\ (\text{من المنحنى القياسي}) \times \frac{A}{Wt} \qquad (68)$$

حيث أن: A = الحجم الكلي للمستخلص (مل)

Wt = وزن مادة النبات المجففة بالفرن (غ)